

COLONIZACIÓN DE SUSTRATOS ARTIFICIALES Y NATURALES POR HONGOS ACUÁTICOS ZOOSPÓRICOS

A. V. MARANO¹ & M. M. STECIOW²

^{1,2} Instituto de Botánica C. Spegazzini, 53 N° 477, (1900) La Plata, Bs. As., Argentina.

¹ agosum@hotmail.com, ² msteciow@museo.fcnym.unlp.edu.ar

ABSTRACT

We study the «in situ» colonization of different kinds of substrata by zoosporic fungi (S.D Mastigomycotina), making weekly samplings during a month in the streams «El Zanjón» and «Las Cañas» (Ensenada, Bs. As., Argentina). In those sites we put twelve different substrata, both naturals (monocotyledon leaves, crustacean shells, *Rosa* sp. fruits, snake sheds and little fishes) and artificial ones (cellophane fragments, polypropylene bags, slides, and two kinds of different plastic materials). The substrata were put separately in drilled plastic bags, and left for a week to allow colonization. In both sites, we observed that *Saprolegnia* colonized every kind of substratum (both natural and artificial ones), while *Achlya* was encountered in the majority of them (little fishes, slides, cellophane fragments, pieces of X-rays, *Rosa* sp. fruits, and monocotyledon leaves), *Dichtyuchus* was observed in fishes and *Rosa* sp. fruits, *Brevilegnia* and *Pythium* in pieces of X-rays plate and *Aphanomyces* only in plastic materials. Based on these preliminary results, we can infer that there is an apparent selection of some genera for particular substrata. It's interesting to emphasize that colonization of artificial substrata by *Saprolegnia*, *Achlya*, *Brevilegnia*, *Pythium* and *Aphanomyces*, might suggest the possibility of using these genera in superficial biodegradation of plastic materials.

Key words: zoosporic fungi, Mastigomycotina, substratum, colonization, aquatic environments.

INTRODUCCIÓN

Los hongos acuáticos zoospóricos son organismos que se encuentran como saprotrofos sobre una gran variedad de sustratos de origen animal y vegetal (Sparrow, 1960, 1968; Fuller & Jaworski, 1987), principalmente en cuerpos de agua dulce o como parásitos de peces, anfibios, fitoplancton e inclusive otros hongos zoospóricos (Blaustein *et al.*, 1994; Yuasa & Hatai, 1996; Dick, 2001; González *et al.*, 2001; Czczuga *et al.*, 2002). Poseen un importante rol como descomponedores de la materia orgánica dentro de los ecosistemas acuáticos, ya que son capaces de degradar quitina, querati-

na, celulosa y carbohidratos simples. La capacidad de estos hongos para colonizar una gran variedad de sustratos radica en el quimiotaxismo de la zoospora, ya que su patrón de nutrición y modo de dispersión se hallan ajustados al mismo (Sorenson & Davis, 2000). Presentan diferentes requerimientos en relación con determinados parámetros físico-químicos, como ser pH, concentración de nutrientes, oxígeno disuelto, y presencia de contaminantes. En general, los cuerpos de agua con una gran biomasa fotosintética proveen un sitio adecuado para su desarrollo, mientras que las aguas con bajo contenido de oxígeno y alto contenido de dióxido de carbono, pro-

veen condiciones favorables para algunas especies con actividad metabólica fermentativa, pertenecientes a los órdenes Blastocladales y Leptomitales (Held *et al.*, 1969).

El estudio de estos hongos resulta de particular interés, ya que son pocos los trabajos sistemáticos realizados en ambientes de nuestro país (Beroqui, 1969, 1970; Steciow, 1988, 1993 a, b, 1997 a, b, 1999; Steciow, Eliades & Arambarri, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colocaron doce sustratos distintos (naturales y artificiales) en los arroyos «El Zanjón» y «Las Cañas» (Pdo. de Ensenada), en donde se realizaron muestreos semanales a lo largo de un mes, entre mayo y junio de 2004. Los sustratos se colocaron cada uno por separado en frascos plásticos perforados, sujetos a la vegetación costera.

Los sustratos naturales fueron: hojas de monocotiledóneas, artrópodos (isópodos y caparzones de crustáceos), frutos de rosa, mudas de serpiente y peces pequeños, y los artificiales fueron: fragmentos de celofán, bolsas de polipropileno, placas radiográficas, filmas y dos tipos de materiales plásticos. Los sustratos naturales se seleccionaron por composición (quitina, celulosa, queratina), mientras que la mayor parte de los sustratos artificiales fueron seleccionados por ser derivados de hidrocarburos, ya que se sabe que estos hongos son capaces de crecer en aguas con un alto contenido en estos compuestos (Steciow, 1988, 1993 a,b). Se colocó la misma superficie expuesta para el caso de los sustratos artificiales (45 cm²), y para los sustratos naturales se tomó la misma cantidad de cada material (tres fragmentos de cada uno de tamaño aproximado) para que los resultados sean comparables (Sanders & Anderson, 1979; Barlocher & Schweizer, 1983).

Para tener un conocimiento de los géneros presentes en ambos arroyos, se tomaron muestras de agua y de materia orgánica flotante (restos vegetales) en cada sitio. Las mismas fueron colocadas en cajas de Petri con semillas de sésamo estériles utilizadas como sustrato. Al cabo de 4 a 7 días de incubación se observó el micelio y se reconocieron los géneros a partir de sus estructuras reproductivas características (Johnson, 1956; Seymour, 1970).

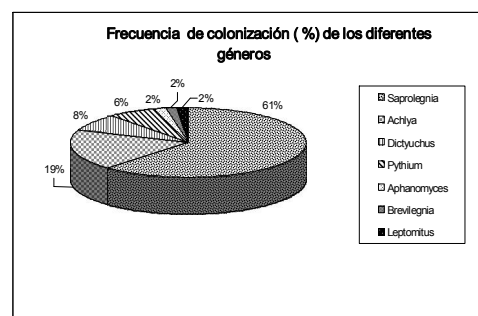
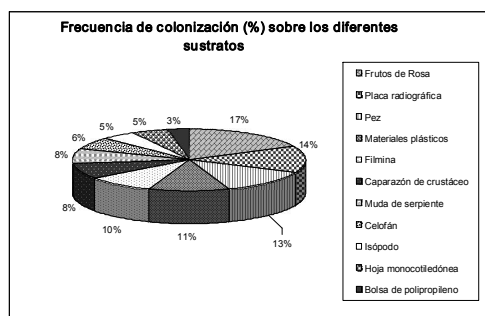
Posteriormente se colocaron en cada cuerpo de agua los frascos conteniendo los diferentes tipos de sustratos por duplicado, que fueron retirados y reemplazados semanalmente, y al cabo de cuatro semanas, sumaron 192 muestras. Una vez recolectados, se lavaron *in situ* con agua (para eliminar todo resto de materia orgánica adherida) y fueron transportados en baldes con agua corriente. En el laboratorio, los sustratos se colocaron en cajas de Petri con agua destilada estéril, y se observó y registró la presencia de micelio bajo lupa binocular. Aquellas muestras en las que se observó colonización fueron procesadas según la metodología antes descrita, propuesta por Johnson (1956) y Seymour (1970).

Para determinar si existían diferencias en la colonización de sustratos naturales y artificiales los datos se analizaron con el Test de Kruskal-Wallis mediante el programa Statgraphics versión 4.0.

RESULTADOS

Las muestras de agua y materia orgánica analizadas mostraron que en ambos sitios se hallan presentes los géneros *Saprolegnia* (46 % de las muestras), *Dictyuchus* (29 %) y *Achlya* (25 %). La colonización de las muestras de agua y materia orgánica fue del 61 %.

En cuanto a los sustratos, sólo se



observó colonización en 63 muestras (33 % de colonización).

La colonización por tipo de sustrato (natural/artificial) muestra que no existieron preferencias de colonización de sustratos naturales o artificiales ya que no existieron diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias de colonización entre sustratos naturales (56 %) y sustratos artificiales (44 %) (analizado con el Test de Kruskal-Wallis con un 95 % de significancia y $\alpha = 0,05$).

Los sustratos colonizados con mayor frecuencia fueron los frutos de *Rosa* sp (17 %), placas radiográficas (14%), peces (13 %), materiales plásticos (11%) y filminas (9 %), seguidos de mudas de serpiente (8%), caparazón de crustáceo (8%), celofán (6%), isópodos (5%), hojas de monocotiledónea (5%) y bolsa de polipropileno (3%) (Figura 1).

En cuanto a la capacidad de colonización de cada género en particular observamos que *Saprolegnia* colonizó el 62 % de las muestras, *Achlya* el 19 %, *Dictyuchus* el 8 % y *Pythium* el 6 %, mientras que *Aphanomyces*, *Brevilegnia* y *Leptomitius* tan sólo colonizaron un 2 % de las mismas (Figura 2). En lo referente a la selectividad del sustrato, se observó en ambos cuerpos de agua, que *Saprolegnia* colonizó todos los tipos de sustratos (tanto naturales como artificiales), mientras que *Achlya* fue encontrada

en la mayoría de los sustratos (peces, hojas de monocotiledónea, frutos de *Rosa*, celofán, placas radiográficas y filminas), *Dictyuchus* sólo creció sobre peces y frutos de *Rosa*, *Pythium* en bolsas de polipropileno y materiales plásticos, *Leptomitius* sólo en mudas de serpiente, *Brevilegnia* en placas radiográficas y *Aphanomyces* únicamente en plásticos. La abundancia relativa de cada género en los distintos sustratos se observa en la Figura 3.

DISCUSIÓN

La importancia biológica de las zoosporas de estos hongos fue señalada por Ingold (1953), y reside más que en su movilidad, en su capacidad para seleccionar sustratos debido al quimiotaxismo que poseen las mismas.

Según Sparrow (1968), los sustratos tales como quitina, queratina, celulosa, pectina y otros, son colonizados por la selectividad de las zoosporas de estos organismos. Es por ello que la técnica de cebado utilizada en el presente estudio, ha provisto de distintos tipos de hongos especializados fisiológicamente para la distinción de sustratos de composición química diferente. De acuerdo con ensayos previos en laboratorio, la longevidad de las zoosporas fluctúa entre 5hs y 24hs (Waterhouse, 1962; Willoughby, 1962; Ho, 1975) dependiendo también de la

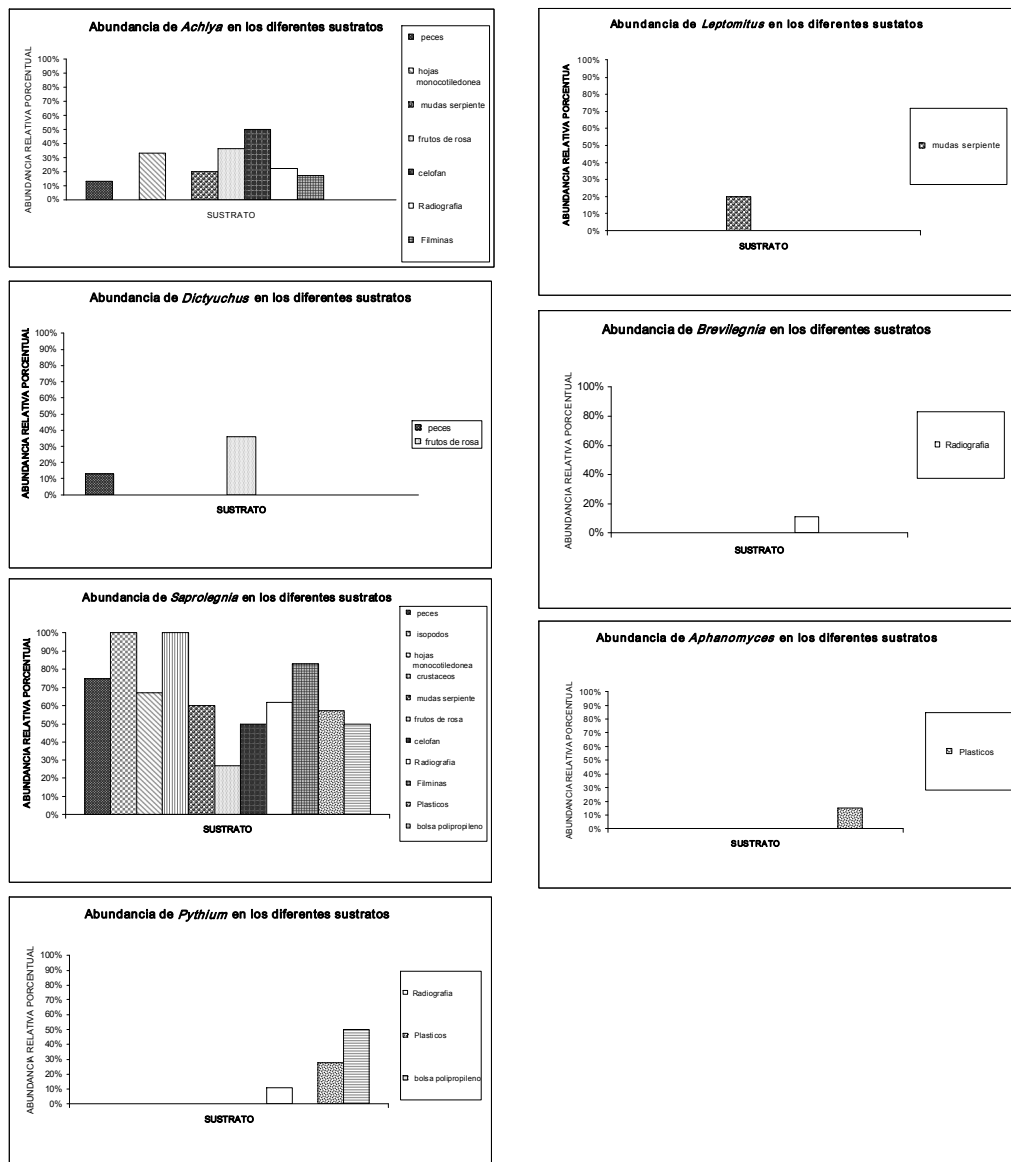


Figura 3. Abundancia de cada género en los diferentes sustratos.

disponibilidad de sustrato y de las condiciones del ambiente; por ello estimamos que el tiempo de exposición de los sustratos ensayados en esta contribución resulta ser por demás adecuado para los objetivos de este trabajo.

Poco se conoce acerca de su actividad degradativa, la influencia de las propiedades físico-químicas del am-

biente, y de sus requerimientos nutricionales en sustratos sumergidos (Reischer, 1951; Whiffen, 1945; Cantino & Turian, 1959; Steciow, 1993c).

En cuanto a la influencia del ambiente, Dick (1992) estableció que los factores climáticos afectarían tanto la disponibilidad del sustrato -que constituye el nicho fundamental del hongo- como la eficiencia con la cual éste es

utilizado. Factores tales como concentración y tasa de recambio del nutriente, son tan importantes como su composición; la remoción de los productos de desecho resulta ser también un factor decisivo para especies saprófitas y parásitas.

En el presente trabajo se estudió por primera vez la colonización de sustratos artificiales por estos hongos, a excepción del celofán, que es un cebo adecuado para hongos Chytridiomycetes (Dick, 2001). Es de particular interés la colonización por *Saprolegnia*, *Achlya*, *Brevilegnia*, *Pythium* y *Aphanomyces* de sustratos artificiales. Resulta importante destacar que dado que géneros como *Saprolegnia* y *Achlya* presentan un abundante desarrollo miceliar en cultivo, debería estudiarse de manera más detallada esta aparente capacidad de biodegradar materiales plásticos.

CONCLUSIONES

En estos resultados preliminares se observa una aparente selectividad de ciertos géneros (*Aphanomyces*, *Pythium*, *Leptomitus* y *Brevilegnia*) por algunos sustratos, lo que se ve reflejado también en su ausencia en las muestras de agua y materia orgánica, en las cuales se utilizó como sustrato semillas de sésamo. Los géneros *Saprolegnia* (40 %), *Dictyuchus* (40 %) y *Leptomitus* (20 %) fueron los únicos representados en las muestras de agua, mientras que en las muestras de materia orgánica se encontraron presentes *Saprolegnia* (40 %), *Dictyuchus* (35 %) y *Achlya* (25 %).

La colonización de diversos sustratos refleja la gran capacidad enzimática de estos hongos, por lo que debería ponerse mayor énfasis en su conocimiento y sus posibles aplicaciones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Universidad Nacional de La Plata por el financiamiento económico para la realización de estos estudios (Proyecto N/333 y Proyecto N/ 440) y al CONICET (PEI 6485/01 y PIP 2096).

BIBLIOGRAFÍA

- Barlocher, F. & M. Schweizer.** 1983. Effects of leaf size and decay rate on colonization of aquatic Hyphomycetes. *Oikos* 41: 205-210.
- Beroqui, M. A.** 1969. Dos especies nuevas del género *Achlya*. *Darwiniana* 15: 9-13.
- Beroqui, M. A.** 1970. Contribución al estudio de los Phycomycetes acuáticos de la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 13: 109-124.
- Blaustein, A. R.; D. G. Hokit; R. K. O' Hard & R. A. Holt.** 1994. Pathogenic fungus contributes to amphibian losses in the Pacific Northwest. *Biol. Conserv.* 67: 251-254.
- Cantino, E. C. & G. F. Turian.** 1959. Physiology and development of lower fungi (Phycomycetes). *Ann. Ver. Microb.* 13: 97-124.
- Czeczuga, B.; B. Kieziewicz & Z. Damiakiewicz.** 2002. Zoospore fungi growing on the specimens of certain fish species recently introduced to polish waters. *Acta Ichthyologica et piscatoria* 32: 117-125.
- Dick, M. W.** 1992. Patterns of phenology in populations of zoospore fungi. En: Carroll, G.C. & D.T. Wicklow (eds): *The fungal community. Its organization and role in the ecosystem.* 2da Ed. Mycology Series, Vol.9 Marcel Dekker, Inc. New York. 355-382p.
- Dick, M. W.** 2001. *Straminipilous fungi: systematics of the peronosporomycetes, including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids, and similar organisms.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 670p.
- Fuller, M. S. & A. Jaworski.** 1987. Zoospore fungi in the teaching and research. Southeastern Pub. Corp., Athens Georgia. 303p.
- González, M. L.; J. M. Bosco Ortiz; M. González del Valle & C. Sarasquete.** 2001. Saprolegniasis en poblaciones naturales de peces. *Ciencias Marinas.* 27: 125-127.
- Held, A.R.; R. Emerson; M. Fuller & F. Gleason.** 1969. *Blastocladiella* and *Aqualinderella*: fermentative water molds with high carbon dioxide optimum. *Science* 165: 76-79.
- Held, A.R. & M. Fuller.** 1975. Observations on the beha-

- viour of zoospores of *Saprolegnia* species. *Mycologia* 67: 425-428.
- Ingold, C. T.** 1953. *Dispersal in fungi*. Oxford University Press, London. 197p.
- Johnson, T. W. Jr.** 1956. The genus *Achlya*: Morphology and Taxonomy. Univ. Michigan Press, Ann. Arbor, Michigan. 180p.
- Reischer, H. S.** 1951. Growth of Saprolegniaceae in synthetic media. I. Inorganic nutrition. *Mycologia* 43:142-153.
- Sanders, P. F. & J. M. Anderson.** 1979. Colonization of wood blocks by aquatic Hyphomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 73: 103-107.
- Seymour, R. L.** 1970. The genus *Saprolegnia*. *Nova Hedwigia* 19: 1-124.
- Sorenson, G. & J. R. Davis.** 2000. Aquatic Oomycetes in farm pouns in Bryan Country, Oklahoma. *Oklahoma Academy of Science* 58: 48-53.
- Sparrow, F. K. Jr.** 1960. *Aquatic Phycomycetes*. 2nd. ed. Ann. Arbor, Univ. Michigan Press. Michigan. 1187p.
- Sparrow, F. K. Jr.** 1968. Ecology of freshwater fungi. En: Ainsworth, G.C. & A.S. Sussman (eds.): *The fungi*. Vol. III. Academic Press, New York. pp. 41-93.
- Steciow, M. M.** 1988. Algunos *Oomycetes* de ambientes acuáticos de la Prov. de Bs. As. (*Mastigomycotina*). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 25: 333-346.
- Steciow, M. M.** 1993a. Presencia de *Saprolegniales* (*Mastigomycotina*) en Río Santiago y afluentes (Prov. de Bs. As., Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 29: 211-217.
- Steciow, M. M.** 1993b. Presencia de hongos zoospóricos en Río Santiago y afluentes (Prov. de Bs. As., Argentina). *Darwiniana* 32: 265-270.
- Steciow, M. M.** 1993c. Actividad enzimática de algunas Saprolegniales (*Oomycetes*). *Boletín Micológico* 8: 67-70.
- Steciow, M. M.** 1997a. The occurrence of *Achlya recurva* (*Saprolegniales*, *Oomycetes*) in hydrocarbon-polluted soil from Argentina. *Rev. Iberoam. Micol.* 14: 132-134.
- Steciow, M. M.** 1997b. Hongos acuáticos zoospóricos (*Oomycetes*, *Mastigomycotina*) en laguna Vitel y tributarios (Bs. As., Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 32: 67-73.
- Steciow, M. M.** 1999. Hallazgo de *Blastocladias globosa* y *Blastocladia pringsheimii* (*Blastocladiales*, *Chytridiomycota*) en Arroyo Vitel Sur (Chascomús, Argentina). *Darwiniana* 37: 335-339.
- Steciow, M. M.; L. Eliades & A. Arambarri.** 2001. Nuevas citas de Blastocladiales (*Chytridiomycota*) en ambientes contaminados de Ensenada (Buenos Aires, Argentina). *Darwiniana* 39: 231-237.
- Waterhouse, G. M.** 1962. The zoospore. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 45: 1-20.
- Whiffen, A. J.** 1945. Nutritional studies of representatives of five genera in the Saprolegniaceae. *J. Elisha Mt. Sci. Soc.* 61: 22-25.
- Willoughby, L. G.** 1962. The occurrence and distribution of reproductive spores of Saprolegniales in fresh water. *J. Ecol.* 50: 773-759.
- Yuasa, K. & K. Hatai.** 1996. Some biochemical characteristics of the genera *Saprolegnia*, *Achlya* and *Aphanomyces* isolated from fishes with fungal infection. *Mycoscience* 37: 477-479.